



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Monografia de Final de Curso

Aluno(a): Gabriele Lopes

Orientadora: Prof^a Dr^a Marinês Nobre dos Santos Uchoa

Ano de Conclusão do Curso: 2005

TCC 238

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
BIBLIOTECA**

Gabriele Lopes

***Comparação da formação e progressão da cárie
em esmalte de dentes decíduos e permanentes***

Monografia apresentada ao curso de
Odontologia da Faculdade de
Odontologia de Piracicaba - UNICAMP,
para obtenção do diploma de Cirurgião-
Dentista.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Marinês Nobre dos Santos Uchoa

Piracicaba – 2005

Dedico esse trabalho aos meus pais que me apoiaram por toda a vida e sonharam junto comigo por essa formatura que agora chega. É graças a eles que alcanço hoje esse meu objetivo. E a minha irmã, grande companheira e amiga para todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

A Profª. **Drª. Marinês Nobre dos Santos Uchoa**, pela pronta disponibilidade em orientar o meu projeto de Iniciação Científica e essa monografia.

A doutoranda **Carolina Steiner** pela dedicação e ajuda que me foi indispensável à realização desse trabalho e pela amizade oferecida.

Ao **Marcelo Corrêa Maistro** técnico do Laboratório de Odontopediatria pela colaboração com as análises químicas.

Ao Dr. **Mario Rúbens Barnabé** que doou os dentes para essa pesquisa e me serve de exemplo como profissional e pessoa.

A todos os **meus colegas de faculdade** que sempre me deram força para seguir em frente e assim, mesmo sem perceber, ajudaram na realização desse trabalho.

SUMÁRIO

| | |
|-------------------------------------|----|
| 1. Lista de Ilustrações | 5 |
| 2. Resumo | 6 |
| 3. Introdução | 7 |
| 4. Revisão de Literatura..... | 9 |
| 5. Materiais e Métodos..... | 16 |
| 6. Resultados | 22 |
| 7. Discussão | 23 |
| 8. Conclusão | 24 |
| 9. Anexos | 25 |
| 10.Referências Bibliográficas | 29 |

1. LISTA DE ILUSTRAÇÕES

1. Figura 1. Ciclagem de pH: alternância dos blocos de esmalte nas soluções Des e Re.
2. Figura 2: Processo de inclusão do bloco de esmalte em resina de poliestireno.
3. Figura 3. Ilustração representativa das impressões realizadas nos blocos durante análise de microdureza
4. Figura 4. Foto do microdurômetro Future-Tech FM® acoplado a um software FM-ARS®
5. Tabela 1. Médias e desvios padrão da perda mineral(ΔZ)do esmalte dental decíduo e permanente com ou sem lesão de cárie subsuperficial e submetido à ciclagem de pH.
6. Gráfico 1. Médias e desvios padrão da perda mineral do esmalte(ΔZ) em cada grupo.
7. Figura 5. Imagem observada por microscopia de luz polarizada do esmalte decíduo com lesão de cárie subsuperficial e submetido à ciclagem de pH (esquerda) e apenas submetido à ciclagem de pH (direita).
8. Figura 6. Imagens observadas por microscopia de luz polarizada do esmalte permanente com lesão de cárie e submetido à ciclagem de pH (esquerda) e apenas submetido à ciclagem de pH (direita).

2. RESUMO

Sabe-se que dentes decíduos apresentam composição química diferente dos dentes permanentes, principalmente quanto ao conteúdo de matéria orgânica, o que explica, em parte, a diferença na resposta desses tecidos quanto aos fenômenos de desmineralização e remineralização.

Dessa forma, a presente pesquisa teve como objetivo avaliar a formação e progressão da cárie dental no esmalte de dentes decíduos e permanentes em 40 blocos de esmalte, sendo estes: 20 decíduos e 20 permanentes. Foi produzida lesão de cárie subsuperficial em metade de cada um desses grupos e em seguida, todos eles foram submetidos à ciclagem de pH.

Terminando o processo da ciclagem, os blocos dentais foram seccionados transversalmente para determinação da porcentagem de volume mineral/ μm através da análise de microdureza. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente pelo Teste T não pareado, comparando aos pares, com 5% de nível de significância.

3. INTRODUÇÃO

Ao longo dos últimos anos, muitos avanços têm sido alcançados na prevenção da cárie em crianças, adolescentes e adultos.^{4,13} A prevalência e incidência de cáries em dentes permanentes sofreu uma redução substancial que se deveu, em parte, ao uso disseminado de flúor sistêmico, flúor tópico e selantes de fósulas e fissuras, medidas preventivas direcionadas aos dentes permanentes. No entanto, essas medidas não são extensivas aos dentes decíduos o que os torna, entre outros fatores, mais susceptíveis ao desenvolvimento de cárie.^{4,13,17} A esse respeito, pesquisas realizadas no Brasil demonstraram que a prevalência de cárie em pré-escolares aumenta com a idade.^{2,9,10,11,20,22}

Dentre os fatores responsáveis pelo desenvolvimento da cárie dental salienta-se a composição química do esmalte dos dentes decíduos que em muito difere daquela observada nos dentes permanentes. Assim, observa-se que a porcentagem de Ca no esmalte dos dentes decíduos é menor que nos permanentes; enquanto que os valores de P no esmalte são próximos em ambas as dentições e a relação Ca/P é levemente menor para o esmalte de dentes decíduos. Já a porcentagem de água no esmalte de dentes decíduos é levemente maior que nos permanentes e ainda, os dentes decíduos apresentam, em média, conteúdo orgânico maior que os permanentes.^{16,18} Essa matéria orgânica consiste principalmente em carbonato e a diferença quantitativa e qualitativa (tipo A ou B) desse conteúdo entre os dentes decíduos e os permanentes pode ser um dos fatores que contribuem para a progressão mais rápida da cárie em dentes decíduos.²⁵

Sendo assim, faz-se importante esse estudo que terá como objetivo comparar, *in vitro*, a formação e a progressão de lesões de cárie em esmalte de dentes decíduos e permanentes, para melhor entendermos a dinâmica do processo de cárie, o que possibilitará a implementação de medidas preventivas distintas e conseqüentemente mais efetivas para a prevenção e o controle da cárie dental em pré-escolares.

4. REVISÃO DA LITERATURA

4.1. CONSIDERAÇÕES SOBRE A COMPOSIÇÃO MINERAL DO ESMALTE DECÍDUO E PERMANENTE

Esse tópico teve por objetivo apresentar dados sobre a composição do esmalte decíduo e permanente e a comparação entre os mesmos quanto a progressão da cárie dentária.

Diversos estudos encontraram maior progressão de cárie em esmalte decíduo do que em esmalte permanente. Em 1981, Featherstone e Mellberg⁷, em um estudo comparativo entre a progressão da cárie em esmalte bovino, ovino e humano, afirmaram que as lesões de cárie progrediram mais rapidamente em esmalte decíduo do que em permanente. Tyler *et al*²⁷, em 1982 realizaram um estudo produzindo lesões de cárie em 60 caninos decíduos e 8 pré-molares permanentes na presença de alta ou baixa concentração de flúor e afirmaram que a despeito da concentração de flúor, a profundidade das lesões de cárie obtidas em esmalte decíduo foi significativamente maior do que em esmalte permanente, associando esse fato a uma maior porosidade do esmalte decíduo. Shellis²³, em 1984 produziu lesões artificiais de cárie em dentes humanos decíduos e permanentes através da exposição a gel acidificado de hidroximetil-celulose, pH 4,5 por 21 dias e também obteve lesões mais profundas nos decíduos. Associou o fenômeno a maior densidade da junção entre prismas e da fração interprismática no esmalte decíduo.

Em 1997, Sonju Clasen *et al*²⁴ realizaram um estudo, *in situ*, para comparar o desenvolvimento inicial de cáries entre esmalte decíduo e permanente, em ambientes fluoretado e não fluoretado e concluíram que lesões maiores se desenvolveram em esmalte decíduo do que permanente quando nenhum tipo de flúor tópico foi utilizado. Ainda em 1997, Sonju Clasen *et al*²⁵ demonstraram que essa diferença na progressão da lesão de cárie em esmalte decíduo e permanente pode estar relacionada, entre outros fatores, com a concentração total de carbonato que é maior no esmalte decíduo do que no permanente e também com a maior concentração de carbonato tipo A (ligado a hidroxila da hidroxiapatita) nos decíduos do que do tipo B (ligado ao fosfato da hidroxiapatita).

No entanto, em 2003, Issa *et al*¹⁵, em um estudo para investigar a formação de lesão subsuperficial de cárie em esmalte decíduo e permanente *in vitro*, comparar quantitativamente o conteúdo mineral e a distribuição dessas lesões e também a influência do flúor sobre os parâmetros das mesmas, não encontrou diferença significativa nos parâmetros entre o esmalte decíduo e permanente.

4.2. CONSIDERAÇÕES SOBRE OS MÉTODOS EMPREGADOS

Esse tópico teve por objetivo fazer considerações relativas à ciclagem de pH e à análise de microdureza, métodos empregados no presente estudo.

4.2.1. Ciclagem de pH

A ciclagem de pH se refere a um modelo *in vitro* de desenvolvimento de cárie em que o substrato (esmalte/dentina) é exposto a combinações de desmineralização e remineralização, designadas para simular as variações dinâmicas na saturação do mineral e no pH associadas com o processo natural de cárie (White, 1995)²⁹. É esta dinâmica do método que o diferencia de outros modelos de indução de lesão de cárie artificial como a imersão em solução tampão de acetato ou lactato; imersão em meio de cultura de bactérias acidogênicas e contato com gel acidificado cujo comportamento estático simula uma condição de ataque ácido bastante diferente do que ocorre no ambiente bucal. Dessa forma, quando o substrato dental é mantido na solução desmineralizadora, composta de tampões ácidos com cálcio e fosfato em pH baixo, mimetizam-se os vários momentos de decréscimo de pH que ocorrem no biofilme dental e na superfície do esmalte diariamente. O estágio de remineralização, por sua vez, é simulado com o emprego de soluções contendo cálcio e fosfato em um grau de saturação semelhante àquele da saliva.

De acordo com White (1995)²⁹, lesões de 100-250 μm de profundidade, formadas em períodos tão curtos quanto dias ou semanas nos modelos *in vitro*, representam uma progressão clínica da lesão de 6 a 12 meses. Portanto, os sistemas *in vitro* aceleram a dinâmica mineral associada ao processo de desenvolvimento e reversão da lesão cariosa dentro de períodos muito menores dos que ocorrem *in vivo*. Ainda segundo este autor, os modelos *in vitro* permitem avaliar os mecanismos envolvidos nos processos de desmineralização e remineralização com habilidade de quantificar efeitos sobre uma simples variável, mantidas as outras constantes. Por outro lado, apresentam algumas limitações como a inadequada simulação das condições

intrabuciais complexas e diversas que contribuem para o desenvolvimento da cárie; a dificuldade de simular o volume e a composição salivar em relação à área do dente encontrada na remineralização *in vivo*; os artefatos associados com a escolha do substrato; e as condições do teste, em especial os períodos de imersão na solução desmineralizadora ou remineralizadora.

O modelo pioneiro de ciclagem de pH foi proposto por ten Cate & Duijsters⁵, em 1982. Os pesquisadores imergiram dentes bovinos com lesão de cárie subsuperficial em soluções desmineralizadora (DES) e remineralizadora (RE), alternadamente. A solução DES era constituída por 2,2 mmol/L de cálcio, 2,2 mmol/L de fósforo e 50 mmol/L de ácido acético em pH 4,7 e a solução RE continha 1,5 mmol/L de cálcio, 0,9 mmol/L de fósforo, 130 mmol/L de cloreto de potássio e 20 mmol/L de tampão cacodilato em pH 7,0. Adicionalmente, foram acrescentados 2 ppm de flúor nas soluções usadas para alguns grupos. A ciclagem foi realizada durante 10 dias e os espécimes foram mantidos na solução DES por 3 ou 8 h diárias. Determinações de cálcio, fósforo e flúor foram realizadas nas soluções e as lesões foram avaliadas com auxílio da análise de microdureza e da microrradiografia. De acordo com os autores, as condições experimentais do estudo foram semelhantes às do ambiente oral, comparadas com estudos de des- e remineralização conduzidos em separado.

Vários pesquisadores propuseram alterações nesse modelo, seja na composição ou no pH das soluções, no tempo de imersão dos espécimes, no volume de solução por área dental exposta ou na duração da ciclagem, de acordo com o delineamento experimental.

Featherstone *et al.*⁸ (1986) desenvolveram um modelo *in vitro* que apresentava correlação com experimentos *in vivo*. Na pesquisa *in vitro*, os espécimes de esmalte dental humano permaneciam 6 h em 40 mL de solução DES (pH 4,3) e aproximadamente 17 h em 20 mL de solução RE (pH 7,0). A composição das soluções era a mesma daquela usada por ten Cate & Duijsters (1982)⁵, entretanto, a concentração molar na solução DES era menor para cálcio (2 mmol/L) e fosfato (2 mmol/L) e maior para tampão acetato (75 mmol/L), enquanto na solução RE era maior para cloreto de potássio (150 mmol/L). O processo de ciclagem de pH era repetido durante 14 dias consecutivos sendo que, nos finais de semana, os espécimes permaneciam na solução RE. Antes da imersão na solução RE, os espécimes foram tratados por 5 min com produtos fluoretados. No experimento *in vivo*, braquetes foram fixados em pré-molares que seriam extraídos por razões ortodônticas em 20 pacientes. Protocolos de uso dos produtos fluoretados foram entregues aos voluntários e, após 20 dias, os dentes foram extraídos e analisados pela microdureza em corte transversal, assim como os espécimes utilizados no estudo *in vitro*. Os resultados mostraram que a profundidade e a extensão da desmineralização ocorrida no modelo *in vitro* foi muito similar àquela observada no estudo *in vivo* de um mês e, desta forma, possibilitaria, ao menos para produtos fluoretados, uma razoável predição da eficácia clínica.

Argenta *et al.* (2003) modificaram o modelo de ciclagem de pH proposto por Featherstone *et al.*⁸ (1986) com o objetivo de preservar a superfície do esmalte e de produzir lesões iniciais que pudessem ser avaliadas pela análise de microdureza. Para isso, realizaram algumas alterações como a

adição de flúor em baixa concentração nas soluções desmineralizadora e remineralizadora, a elevação do pH da solução remineralizadora para 7,4, a diminuição do período de permanência dos espécimes na solução desmineralizadora para 3 h diárias, a redução do número de ciclos que passou a ser 5 e a permanência dos espécimes na solução remineralizadora por 2 dias, depois de finalizados os ciclos. Os autores observaram que a profundidade da lesão formada no esmalte foi similar àquela encontrada por Featherstone *et al.* (1986)⁸ e concluíram que o modelo possibilita avaliar as variações de mineral ocorridas nas camadas mais externas do esmalte durante o desenvolvimento de cárie.

4.2.2. Análise de microdureza

A determinação das alterações do conteúdo mineral, resultantes da desmineralização e remineralização nos tecidos dentais duros, é importante em vários estudos na odontologia, especialmente na área de cariologia. Dentre os diversos métodos de quantificação mineral no esmalte destaca-se a microdureza em corte transversal, ou microdureza do esmalte seccionado longitudinalmente, que indiretamente evidencia a perda e/ou ganho mineral.

No teste de microdureza, um penetrador é levemente pressionado contra a superfície a ser testada usando carga e tempo pré-definidos. Há dois tipos de penetradores utilizados em pesquisas na área de cariologia: o diamante Vickers e o diamante Knoop, que produzem impressões em forma de quadrado e losango, respectivamente (ten Bosch & Angmar-Månsson³, 1991). O comprimento das impressões na amostra é determinado microscopicamente em micrômetros e se o valor aumenta, o tecido perdeu mineral, contrariamente,

se diminui em magnitude, muito provavelmente o tecido ganhou mineral (Arends & ten Bosch¹).

Featherstone *et al.*⁶ verificaram, em estudo comparativo, que a porcentagem de volume mineral (%vol) determinada pela microrradiografia, uma técnica quantitativa, também pode ser calculada por meio da microdureza em corte transversal aplicando-se a seguinte fórmula: $\%vol = 4,3 \times (KHN)^{1/2} + 11,3$ onde KHN (*Knoop hardness number*) é o número de dureza Knoop. O coeficiente de correlação encontrado foi de 0,919 e os pesquisadores concluíram que a técnica de microdureza pode ser utilizada não somente na comparação de alterações de dureza, bem como uma medida de perda/ganho mineral resultante de processos de desmineralização e remineralização.

Kielbassa *et al.*¹⁴ também observaram relação linear ($r^2 = 0,915$) entre a raiz quadrada do KHN e a %vol e, segundo eles, os valores de microdureza podem ser convertidos em %vol usando a seguinte equação: $[21,19 + 3,66 \times (KHN)^{1/2}]$.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Obtenção das Amostras

Foi preparada solução de timol a 0,1% e acondicionada em embalagens plásticas que foram distribuídas por diversos consultórios odontológicos, principalmente odontopediátricos, para a coleta de dentes decíduos de acordo com as normas do Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP. Houve grande demora nesta etapa devido à dificuldade de se encontrar dentes decíduos íntegros que a criança concordasse em doar. Os terceiros molares permanentes inclusos foram obtidos no departamento de Diagnóstico Oral/Área de Cirurgia Buco-maxilo-facial da FOP – Unicamp.

Após serem limpos, os dentes foram cortados ao meio no sentido mésio-distal com disco diamantado. Após esse procedimento, foram polidos com escova robson e pasta de alumina, de granulometria 5 μ m, durante 30 segundos cada. Foram, então, sonicados por 30 segundos por duas vezes e em seguida, cuidadosamente examinados com lupa estereoscópica. Aqueles cujo esmalte estava íntegro e livre de manchas brancas, trincas e outras imperfeições foram selecionados de forma que os blocos de esmalte dental foram obtidos do terço médio das faces vestibular e lingual de cada dente. Assim, foram obtidos 40 blocos dentais, sendo 20 blocos de esmalte permanente íntegro e 20 de esmalte decíduo íntegro.

5.2 Obtenção do pó de esmalte

O pó de esmalte é um dos componentes da solução produtora de lesão subsuperficial de cárie e foi obtido da seguinte forma:

As coroas dentais foram seccionadas das raízes e a seguir, foram pulverizadas utilizando-se moinho manual. As partículas foram fracionadas em um jogo de tamiz (Telatest), sendo que as partículas de tamanho 0,074mm a 0,105 mm foram separadas. Tínhamos então, partículas de esmalte e dentina na granulação desejada.

Para selecionarmos apenas o pó de esmalte, a mistura foi adicionada a um funil de separação contendo solução de bromofórmio-acetona (92:8), $d = 2,95\text{g/mL}$, em que o esmalte pôde ser coletado livre da dentina ($d=2,14\text{mL}$) (Asgar, 1956), pela diferença de densidade.

Os solventes foram eliminados por evaporação em capela sob exaustão e completado em estufa. O pó obtido foi armazenado em Becker e foi acrescentada água destilada e deionizada, sendo a mistura agitada. Após o tempo de 1 minuto o sobrenadante, estando límpido ou não foi desprezado. Tal procedimento foi realizado o número de vezes necessárias para se obter um sobrenadante completamente límpido. A seguir, o esmalte foi colocado em estufa a 50° durante 2 horas para desidratar.

5.3 Preparo da solução produtora de cárie

Sob agitação, misturou-se aproximadamente 700ml de água de Mili-Q com 50 ml de ácido acético glacial. Completou-se o volume para 1 litro e o pH foi acertado para 5,0 com hidróxido de sódio em pastilhas.

A mistura foi dividida em 2 volumes iguais e 0,25 g do pó de esmalte foi adicionado a uma dessas partes, ficando sob agitação por 4 dias à 37°C para a dissolução da hidroxiapatita.

Após esse período, essa mistura foi filtrada à vácuo e misturada com a solução restante. O pH foi novamente acertado para 5,0, agora com HCl 2M.

5.4 Formação de lesão de cárie subsuperficial no esmalte

Segundo o método de White (1987)²⁸, 10 dentes permanentes e 10 dentes decíduos passaram por um processo de formação de lesão de cárie subsuperficial, para se comparar o comportamento dos dentes decíduos e permanentes não só quanto à formação das lesões, mas também quanto à progressão das mesmas durante o estudo.

Os blocos de esmalte dental foram recobertos com um verniz ácido-resistente, deixando-se uma área exposta de 1,5 x 1,5 mm (2,25 mm²), que foi submetida a condições físico-químicas capazes de desenvolver alteração subsuperficial no esmalte dental. Para isto, cada bloco de esmalte foi individualmente imerso em 25 ml da solução produtora de cárie á 37°C por 24 horas.

Após esse procedimento, os blocos de esmalte foram separados em 4 grupos:

- GRUPO I - 10 blocos de esmalte decíduo cariados, submetidos à ciclagem de pH.
- GRUPO II - 10 blocos de esmalte decíduo íntegros, submetidos à ciclagem de pH;
- GRUPO III - 10 blocos de esmalte permanente cariados, submetidos à ciclagem de pH;
- GRUPO IV - 10 blocos de esmalte permanente íntegros, submetidos à ciclagem de pH;

5.5 Preparo das soluções DES/RE

Para preparar a solução desmineralizadora (DES) foram utilizadas as seguintes concentrações: 2mMol de cálcio; 2 mMol de fosfato e 75 mMol de ácido acético glacial. O pH da solução foi acertado para 4,6.

A solução remineralizadora (RE) foi preparada com as seguintes concentrações: 1,5mMOL de cálcio; 0,9 mMol de fosfato e 20mMol de cacodilato ou TRIS (tampão) e o pH 7,0. Esta solução aproxima-se do grau de saturação em relação aos minerais da apatita encontrados na saliva e é semelhante àquela usada por ten CATE e DUIJSTERS (1982)⁵.

5.6 Ciclagem de pH

O procedimento de ciclagem de pH utilizado nesta pesquisa foi previamente descrito por Featherstone et al. (1983)⁶ e modificado por Nobre dos Santos (2001)²¹. Assim, os blocos de esmalte, foram submetidos a um modelo alternado de ciclagem de pH, descrito a seguir:

Cada bloco permaneceu imerso individualmente, durante 3 h, em 20 mL (5 mL/mm² de esmalte exposto) de solução desmineralizadora (DES) pH 4,6 (Tagliaferro, 2004) e depois de removidos desta solução, foram lavados com água destilada e deionizada por 10 s e secos com papel absorvente. Posteriormente, foram imersos individualmente, durante 21 h, em 10 mL (2,5 mL/mm² de esmalte exposto) de solução remineralizadora (RE) pH 7,0 (figura 1).

O procedimento de ciclagem iniciou-se com a solução remineralizadora e foi repetido durante 5 dias consecutivos, quando então, permaneceu 48hs imerso na solução remineralizadora. Durante todo o processo, os blocos

permaneceram em estufa ajustada a 37°C, exceto nos intervalos de lavagem e alternância das soluções.

Terminada a ciclagem de pH, os blocos foram lavados com jatos de água destilada e deionizada durante 10 s, secos com papel absorvente e mantidos em ambiente fechado, úmido e sob refrigeração até o preparo para leitura de microdureza e análise por microscopia de luz polarizada.

5.7 Análise dos blocos de esmalte por microscopia de luz polarizada

Fazendo-se uso do micrótomo de tecido duro de Silverstone & Taylor, foi feita uma secção longitudinal de cada bloco de esmalte de modo a obter-se uma amostra plano-paralela longitudinal (Theuns et al, 1980) de aproximadamente 100 µm de espessura.

As amostras foram polidas, embebidas em H₂O e submetidas ao microscópio óptico de luz polarizada para análise da birrefringência do esmalte dental decíduo e permanente e das lesões de cárie encontradas, realizando-se análise qualitativa das lesões cariosas.

5.8 Análise de Microdureza do Esmalte Seccionado Longitudinalmente

Para a realização do ensaio de microdureza no esmalte dental, os blocos foram seccionados longitudinalmente, expondo a lesão em profundidade. Os blocos foram embutidos em resina de poliestireno e polidos em politriz Metalserv 2000.

As impressões foram realizadas mantendo o longo eixo do diamante do penetrador paralelo à superfície externa do esmalte e utilizando carga estática

de 25 g durante 5 s, em pontos distintos, porém com distâncias padronizadas. Três fileiras, distanciadas entre si em 100 µm e com 12 impressões cada, foram executadas a partir de 10 µm da superfície do esmalte, seguindo até a profundidade de 180 µm, com intervalos de 10 µm entre as 6 primeiras impressões e de 20 µm entre as restantes, conforme ilustra a Figura 3. As análises realizadas foram efetuadas utilizando-se o microdurômetro Future-Tech FM® acoplado a um software FM-ARS® (figura 4)

5.9 Determinação do perfil mineral

Para o cálculo da perda mineral, as médias dos valores de dureza Knoop obtidos em cada profundidade foram transformadas em porcentagem de volume mineral (%vol) pela fórmula proposta por FEATHERSTONE, *et al.*, (1983): $\%vol = 4,3 \times (KHN)^{1/2} + 11,3$ em que KHN (*Knoop hardness number*) é o número de dureza Knoop médio em cada uma das profundidades analisadas.

Os valores obtidos foram plotados em gráfico de forma que a ligação entre os pontos permitiu traçar uma curva. O perfil mineral foi determinado por meio do cálculo da área sob a curva construída.

5. 10 Análise dos resultados

Na análise por microscopia de luz polarizada, foi realizada apenas uma análise qualitativa visual das lesões cariosas obtidas.

No teste de microdureza, a variável a ser analisada foi a perda mineral (ΔZ), através do teste T não pareado, utilizando-se 5% como nível de significância.

6. RESULTADOS

A tabela 1 mostra as médias e os desvios padrão de perda mineral do esmalte (ΔZ) encontrada em cada grupo através do teste de microdureza.

Tabela 1. Perda mineral (ΔZ) do esmalte dental decíduo e permanente com ou sem lesão de cárie subsuperficial e submetido à ciclagem de pH.

| GRUPOS | Perda Mineral(ΔZ) |
|---|-----------------------------|
| I Esmalte decíduo com lesão + ciclagem | 1970,63±1009.81 |
| II Esmalte decíduo apenas com ciclagem | 956,69±560.58 |
| III Esmalte permanente com lesão + ciclagem | 2859,14±1514.03 |
| IV Esmalte permanente apenas com ciclagem | 748,90±484.64 |

O teste t realizado mostrou diferença estaticamente significativa entre os grupos I e III ($p < 0,03$), indicando maior progressão da lesão de cárie no esmalte de dentes permanentes do que naquele de dentes decíduos. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos II e IV ($p > 0,05$), mostrando uma equivalência na formação da lesão de cárie tanto para dentes decíduos quanto para dentes permanentes hígidos (gráfico 1).

A microscopia de luz polarizada revelou maior desmineralização subsuperficial nos blocos do grupo III e IV, sugerindo maior progressão da cárie nos dentes permanentes do que nos decíduos o que coincide com os resultados obtidos pela análise de microdureza. As imagens obtidas podem ser observadas nas figuras 5 e 6.

7. DISCUSSÃO

O presente estudo observou uma maior progressão da cárie em superfície de esmalte permanente do que em esmalte decíduo. Uma possível explicação para este resultado poderia ser o fato de que foram utilizados dentes decíduos esfoliados e que, portanto, já haviam passado por todo processo dinâmico de desmineralização e remineralização da cavidade bucal na presença de flúor, tornando-se, assim, mais resistentes ao desafio cariogênico a que foram submetidos.^{12,26} Quanto ao dentes permanentes, foram utilizados terceiros molares retidos. Portanto, dentes que não haviam completado sua maturação mineral, o que ocorre somente após a erupção na cavidade bucal pelo contato com a saliva e portanto, não foram expostos à ação do flúor.^{19, 30} Em conformidade com esse estudo, Issa *et al*¹⁵, em um estudo realizado para investigar a formação de lesão I de cárie subsuperficial em esmalte decíduo e permanente *in vitro*, compararam quantitativamente o conteúdo mineral e a distribuição dessas lesões e também a influência do flúor sobre esses parâmetros e também não encontraram diferença significativa nos parâmetros entre o esmalte decíduo e permanente.

No entanto, o estudo *in situ* realizado por SONJU CLASEN & RUYTER (1997)²⁵ evidenciou através da análise microrradiográfica, uma profundidade de lesão de cárie e uma perda mineral significativamente maiores no esmalte decíduo quando comparadas àquelas observadas no esmalte de pré-molares recém erupcionados, portanto, um substrato semelhante ao empregado no presente estudo (terceiros molares retidos). A maior susceptibilidade do esmalte de dentes decíduos à carie dental está relacionada principalmente com a

menor porcentagem de Ca, maior conteúdo orgânico no esmalte dos dentes decíduos é que nos permanentes. Essa matéria orgânica consiste principalmente em carbonato e a diferença quantitativa e qualitativa (tipo A ou B) desse conteúdo entre os dentes decíduos e os permanentes pode ser um dos fatores que contribuem para a progressão mais rápida da cárie em dentes decíduos²⁵. Diante dos resultados obtidos no presente estudo e tendo confirmado os resultados de perda mineral com a análise por microscopia de luz polarizada, propomos a realização de um novo estudo que irá comparar a formação e progressão da cárie dental *in vitro* no esmalte decíduo, permanente retido (terceiros molares) e permanente recém erupcionado (pré-molares e terceiros molares).

8. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos sugerem que ocorreu uma maior progressão de cárie *in vitro* no esmalte de dentes permanentes não erupcionados do que no esmalte de dentes decíduos já esfoliados.

9. ANEXOS

Figura 1. Ciclagem de pH: alternância dos blocos de esmalte nas soluções Des e Re.

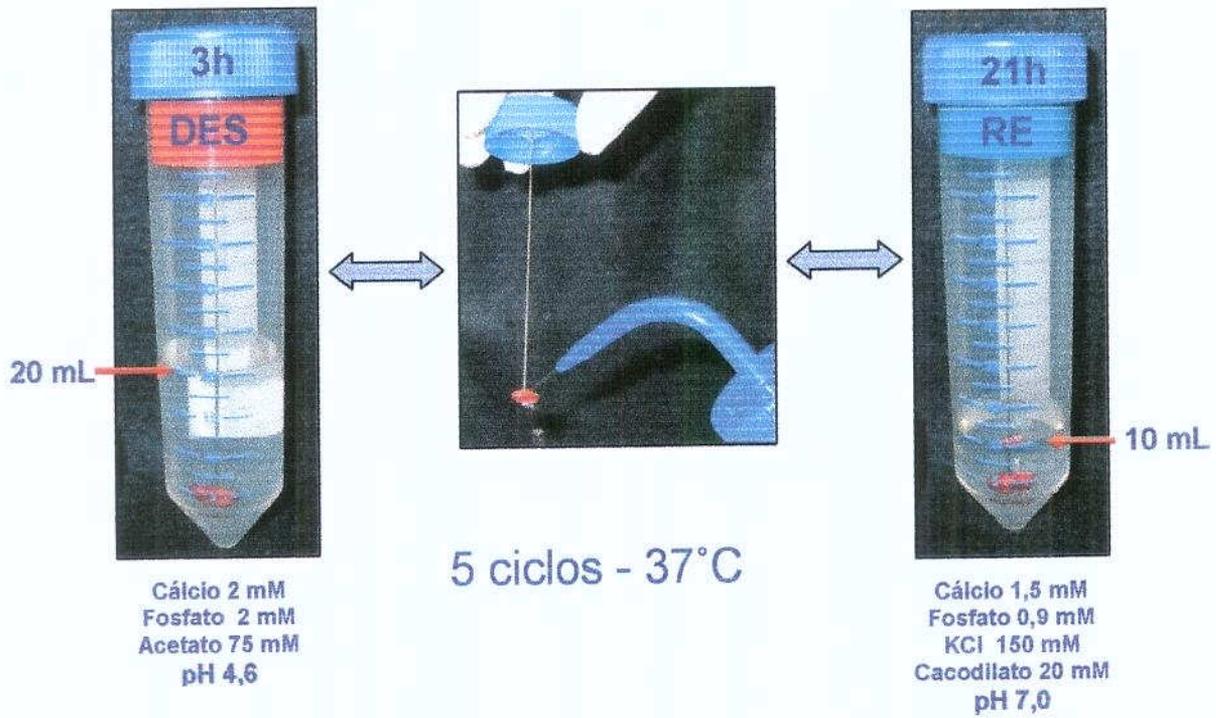


Figura 2: Processo de inclusão do bloco de esmalte em resina de poliestireno.

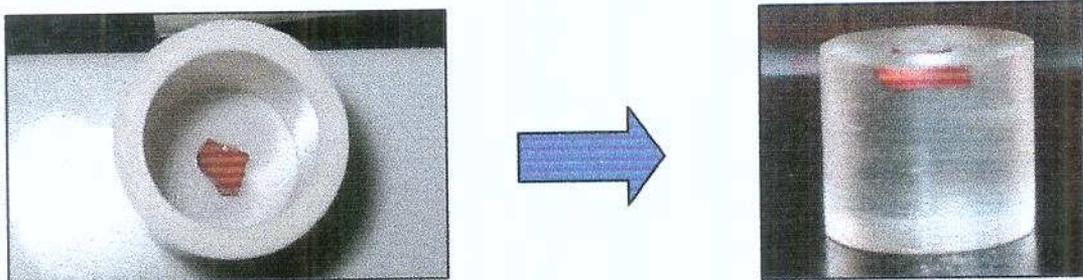


Figura 3: Ilustração representativa das impressões a serem realizadas nos blocos durante análise de microdureza.

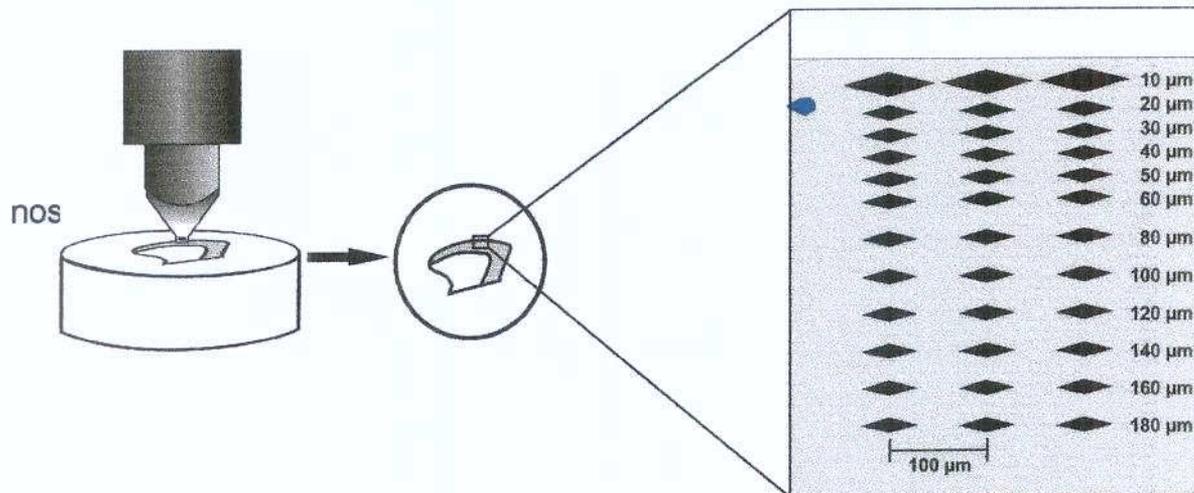


Figura 4. Foto do microdurômetro Future-Tech FM® acoplado a um software FM-ARS®

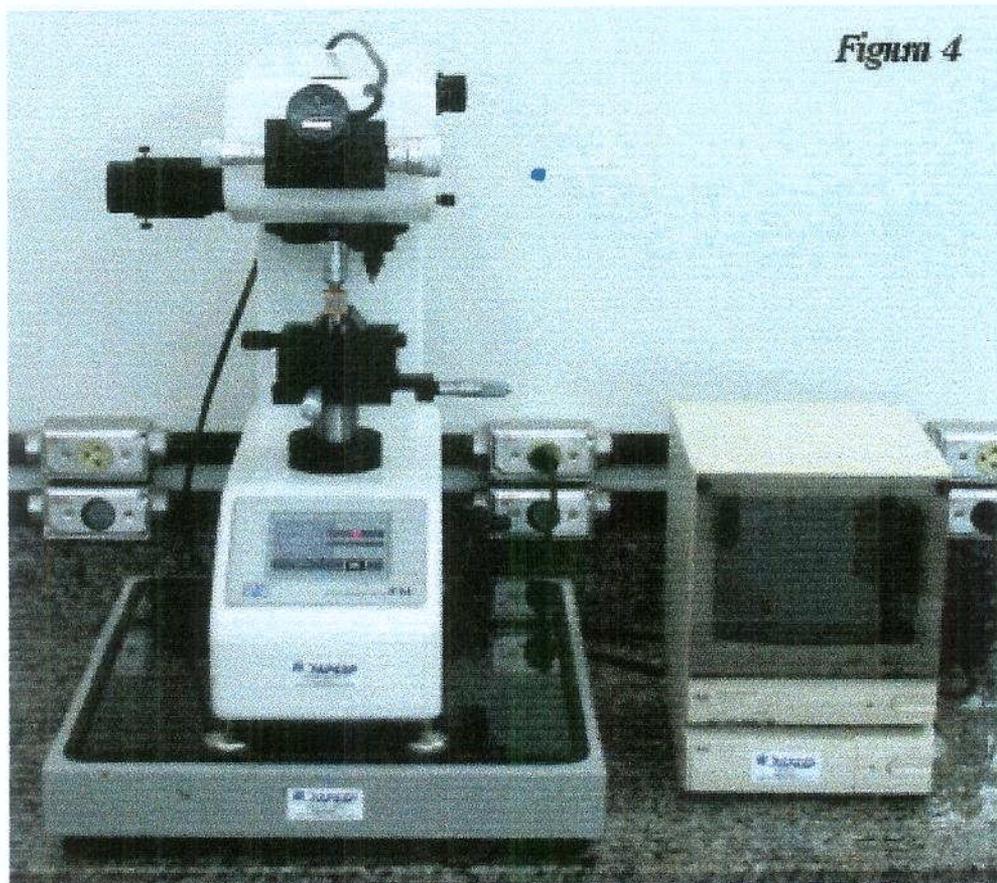


Gráfico 1. Média e desvios padrão da perda mineral(ΔZ) do esmalte decíduo e permanente.

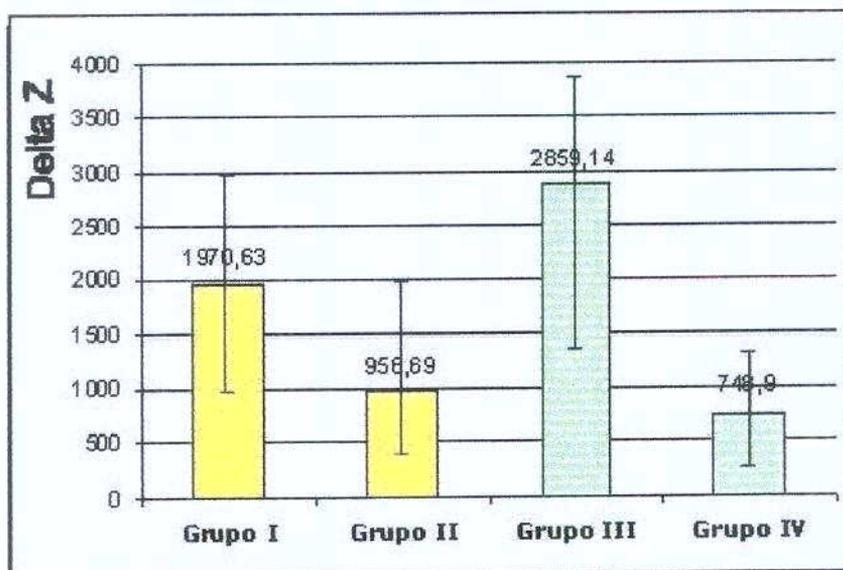
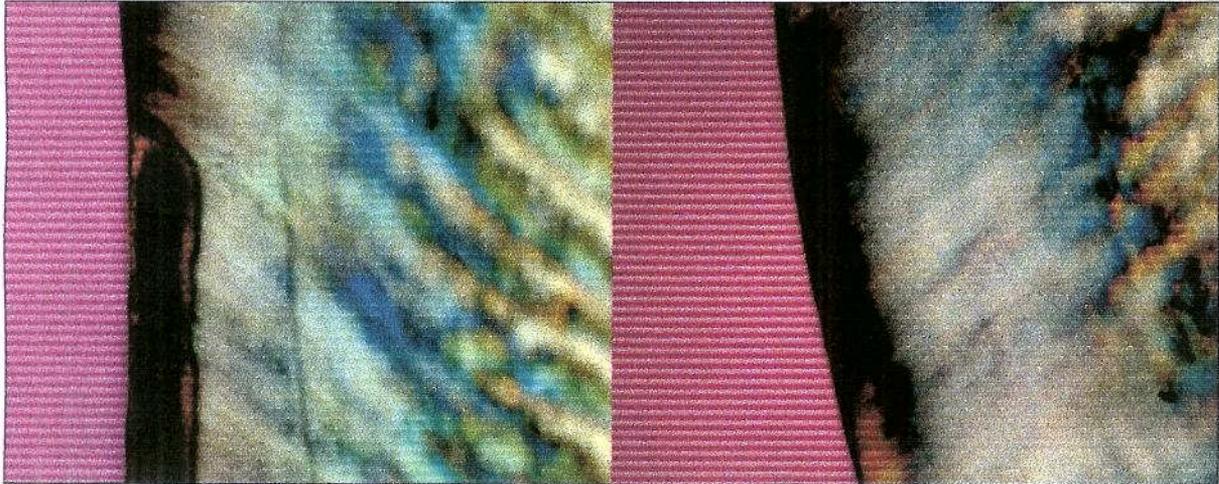


Figura 5. Imagem observada por microscopia de luz polarizada do esmalte decíduo com lesão de cárie subsuperficial e submetido à ciclagem de pH(esquerda) e apenas submetido à ciclagem de pH(direita).



Figura 6. Imagens observadas por microscopia de luz polarizada do esmalte permanente com lesão de cárie e submetido à ciclagem de pH(esquerda) e apenas submetido à ciclagem de pH(direita).



10. BIBLIOGRAFIA

1. ARENDS J, TEN BOSCH JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. **J Dent Res**, v. 71 (Spec No), p. 924-8, 1992.
2. BÖNECKER, M.J.S. Prevalência, distribuição e grau de afecção de cárie dentária em crianças de 0 a 36 meses de idade. **Rev Odontol Univ São Paulo**, v.51, n.6, p.535-540, nov./dez. 1997.
3. ten BOSCH JJ, ANGMAR-MÅNSSON B. A review of quantitative methods for studies of mineral content of intra-oral incipient caries lesions. **J Dent Res**. v.70, n.1,p. 2-14, 1991.
4. BROWN, L.J.; KASTE L.M.; SELWITZ, R.H. *et al*. Dental Caries and sealant usage in US children, 1988-1991: selected findings from the third national health and nutrition examination survey. **JADA**, v.127, p. 335-343, March 1996.
5. ten CATE, J.M.; DUISJSTERS, P.P.E. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. **Caries Res**, Basel, v.16, n.3, p.201-210, 1982.
6. FEATHERSTONE, J.B.D. *et al*. Comparison of artificial caries-like lesion by quantitative microradiographic and microhardness profiles. **Caries Res**, Basel, v.17, n.5, p.385-391, Sept./Oct. 1983.
7. FEATHERSTONE, J.B.D. and MELLBERG J. R. Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human tooth enamel. **Caries res**, 15, 109-114, 1981.
8. FEATHERSTONE JDB, O'REILLY MM, SHARIATI M, BRUGLER S. Enhancement of remineralisation *in vitro* and *in vivo*. In: Leach SA.

- Factors relating to demineralisation and remineralisation of the teeth.** Oxford: IRL Press, p. 23-34, 1986.
9. FRAIZ, F.C. Dieta e cárie na primeira infância. In: WALTER, L. R. F. *et al.* **Odontologia para o bebê.** São Paulo: Artes médicas. 1996, p. 107-122. Cap. 7.
 10. FREIRE, M.C.M. *et al.* Dental caries prevalence in 0-6 yr-old pre-school children in Goiania – GO, Brasil. In: World Congress on Preventive Dentistry, 5. São Paulo, 1995. **Anais.** São Paulo: ABOPREV/ OMS. 1995, p82. [abstract, 26].
 11. GRANER, R.O.M.; RONTANI, R.M.P.; GAVIÃO, M.B.D. *et al.* Caries Prevalence in 6-36 month-old Brazilian Children. **Community Dent Health**, v. 13, n.2, p. 96-98, June 1996.
 12. IMANISHI, H.; NISHINO, M. - Post eruptive maturation of immature young permanent enamel. **J Int Assoc Dent Child.** Dec;14(2):49-54, 1983.
 13. KATE, L.M.; SELWITZ, R.H.; OLDAKOWSKI, R.J. *et al.* Coronal Caries in the primary and permanent dentition of children and adolescents 1-17 years of age: United states, 1988-1991. **J Dent Res:** V. 75 (Spec Iss) p. 631-641, Fevereiro, 1996.
 14. KIELBASSA AM, WRBAS KTH, SCHULTE-MÖNTING J, HELLWIG E. Correlation of transversal microradiography and microhardness on in situ-induced demineralization in irradiated and nonirradiated human dental enamel. **Arch Oral Biol.** v.44, n.3, p. 243-51, 1999.
 15. Issa, A. I., Preston, K. P., Preston, A. J., Toumba, K. J., Duggal, M. S. A study investigating the formation of artificial sub-surface enamel caries-

- like lesions in deciduous and permanent teeth in the presence and absence of fluoride. **Arch Oral Biol.** V.48, n.8, p. 567-5771, Agosto, 2003.
16. LEFREVE, M. L.; HODGE, H.C. *et al.* – Chemical Analysis of Tooth Samples Composed of Enamel, Dentine and Cementum. **J. Dent. Res.** 16: 279 - 287, 1937.
17. LOUIE, R; BRUNELLE, J.A.; MAGGIORE, E.D.: Caries prevalence in Head Start children, 1986-87. **J Public Health Dent**, 50: 299-306, Fall 1990.
18. M. J. BIRD, B.A.; ETHEL L. FRENCH, PH.D.; MARIAN R. WOODSIDE, B.A.; MARTHA I. MORRISON; HAROLD C. HODGE, PH.D. – Chemical Analysis of Deciduous Enamel and Dentin. **J. Dent. Res.** 19: 413 - 423, 1940.
19. MELLBERG, J.R. & RIPA, L. W. – Fluoride in preventive dentistry theory and clinical applications. **Chicago: Quintessence**, p.290, 1983.
20. MORITA, M.C. *et al.* Prévalence de la carie dentaire chez des enfants brésiliens de 0 à 36 mois. **J d'Odonto – Stomatol Pédiatr**, v. 3, p. 19-28, 1993.
21. NOBRE DOS SANTOS, M.; FEATHERSTONE, J.D.B.; FRIED, D. Effect of a New Carbon Dioxide Laser and Fluoride on Sound and Demineralized. **Enamel Laser in Dentistry VII**, vol 42, n. 49, p. 169-174, 2001.
22. SAITO, S.K.; DECCICO, H.M.U.; NOBRE DOS SANTOS, M. Efeito da Prática de alimentação infantil e de fatores associados sobre a

- ocorrência da cárie dental em pré- escolares de 18 a 48 meses. **Rev Odontol Univ São Paulo**, V13, n.1: 05 - 11. Jan. /mar. 1999.
23. SHELLIS, RP. Relationship between human enamel structure and the formation of caries-like lesions in vitro. **Arch Oral Biol**. V.29, n. 12, p. 811 - 975, 1984.
24. SONJU CLASEN AB, OGAARD B, DUSCHNER H, RUBEN J, AREND J, SONJU T. Caries development in fluoridated and non-fluoridated deciduous and permanent enamel in situ examined by microradiography and confocal laser scanning microscopy. **Adv Dent Res**. V. 11, n.4, p. 442-447, 1997.
25. SONJU CLASEN, A .B.; RUYTER, I.E. Quantitative determination of type A and type B carbonate ion human deciduous and permanent enamel by means of Fourier Transform infrared spectrometry. **Adv. Dent. Res**. V.11, n.4, p.523-527, 1997.
26. TAGLIAFERRO, E. P. S. Avaliação in vitro da associação de laser de CO₂ e flúor fosfato acidulado na inibição da progressão de cárie em esmalte de dentes decíduos [dissertação]. Piracicaba (SP): **FOP-UNICAMP**, 2004.
27. TYLER J. E., POOLE D. F. G. AND SHELLIS R. P. Artificial caries lesion formation comparisons. **J. dent Res**. 61, 562, 1982.
28. WHITE, D.J. Use of synthetic polymer gels for artificial carious lesions preparation. **Caries Res**, Basel, v.21, n.2, p.228-242, May/June 1987.
29. WHITE DJ. The application of *in vitro* models to research on demineralization and remineralization of the teeth. **Adv Dent Res**. v.9 n.3, p. 175-93, 1995.

30. WOLTGENS, J. H.; BERVOETS, T.J.; DRIESSENS, F.C. - Effect of post-eruptive age on Ca and P loss from human enamel during demineralization in vitro. **Arch Oral Biol.** 1981;26(9):721-5.